ビタミンD及びカルシウム代謝

小林 正

神戸女子薬科大学衛生化学研究室

Metabolism of Vitamin D and Calcium

TADASHI KOBAYASHI

*Department of Hygienic Sciences, Kobe Women's College of Pharmacy,
Motoyamakita-machi, Higashinada-ku, Kobe 658, Japan*

Recent progress in the metabolism of vitamin D and calcium is reviewed. Vitamin D is metabolized to 25-hydroxyvitamin D (25-OH-D) in the liver and subsequently to $1\alpha, 25$ -dihydroxyvitamin D [$1\alpha, 25$ -(OH) $_2$ D] or $24, 25$ -dihydroxyvitamin D [$24, 25$ -(OH) $_2$ D] in the kidney when plasma calcium concentrations are lower or higher than normal. $1\alpha, 25$ -(OH) $_2$ D, which is known as an active form of vitamin D, is transported to the target organs (intestine, bone and others) to show the physiological activity. The most important role of $1\alpha, 25$ -(OH) $_2$ D is to keep the calcium homeostasis by accelerating the intestinal calcium absorption and bone remodeling and the mechanism is discussed.

Keywords—vitamin D; 25-hydroxyvitamin D; $24, 25$ -dihydroxyvitamin D; $1\alpha, 25$ -dihydroxyvitamin D; calcium; calcium homeostasis; calcium absorption; bone remodeling; 1α -hydroxyvitamin D $_3$

はじめに

高齢化社会を迎えて、老人、特に閉経期の女性に多く見られる骨粗鬆症 (osteoporosis) が深刻な社会問題となってきている。骨粗鬆症とは、後述するように、骨幹部の単位容積当たりの骨塩量が減少して骨の脆弱化が引き起こされて、骨折しやすくなったり、足腰が痛くなったりする病気である。大腿骨骨折のために寝たきり老人となり、急速に老人性痴呆症が進行するといった例が多発しているといわれている。このような骨粗鬆症の治療に活性型ビタミンDが有効であることが明らかになって以来、活性型ビタミンD製剤は脚光を浴び、ブームが起きている。また、活性型ビタミンDは骨髄性白血病や皮膚癌の治療にも有効であることも判明し、ブームに拍車がかかっている。著者は、かつて本誌に“日光照射とビタミンDの栄養について”と題する総説¹⁾を発表し、日光照射による皮膚でのビタミンD $_3$ の生成とその栄養評価について述べたが、今回はこれらのブームを背景に、ビタミンDとカルシウム (Ca) の代謝、並びに活性型ビタミンDの臨床応用などについてまとめてみることにした。

I. ビタミンDの種類と起源

1. ビタミンD $_2$, D $_3$ と国際単位 ビタミンDには側鎖構造の異なるビタミンD $_2$ —D $_7$ があるが、生物効力が高く、かつ自然界でもその分布が多いのは、ビタミンD $_2$ (エルゴカルシフェロール) とD $_3$ (コレカルシフェロール) の2種類のみであり、薬剤や強化食品などに実用的に使用されているのもこの2種類のみである。両者の化学構造式とナンバーリングは Fig. 1 に示す通りである。

ヒトを含む哺乳動物に対し、ビタミンD $_2$ とD $_3$ はほぼ同等の生理効力を示すが、鳥類に対してはビタミンD $_3$ のみが有効で、ビタミンD $_2$ はほとんど効力を示さない。このように、ビタミンD $_2$ は動物の種類によって効力が異なるのに対し、ビタミンD $_3$ は動物の種類に関係なく一様に効果を示すので、WHOではビタミンD $_3$ を国際標準物質とし、結晶ビタミンD $_3$ の0.025 μ gを1国際単位 (IU) と規定している。したがって、ビタミンD $_3$ 1 μ gは40 IUに相当する。ビタミンD $_2$ の場合、ヒトにおいてビタミンD $_3$ とほぼ同等の効力を示すので、便宜的にビタミンD $_3$ と同様に、1 μ gを40 IUとして表示することになっている。^{2,3)} 以下単にビタミンDというときには、ビタミンD $_2$ とD $_3$ の総称を意味する。

Fig. 1. Chemical Structures of Vitamin D₂ and D₃ Fig. 2. Photochemical and Thermal Formation of Vitamin D₃ from 7-Dehydrocholesterol in Skin

2. 皮膚で生成するビタミン D₃ 動物の皮膚では、アセチル CoA よりコレステロールが生合成されるが、この生合成経路の最終中間体にプロビタミン D₃ の 7-デヒドロコレステロール (7-DHC) が存在している。

肝臓は皮膚と並んでのコレステロール生合成の部位であるが、著者ら⁴⁾が正常ラットで測定した結果による

と、両者の間で 7-DHC の含量に大きな差異があった。すなわち、皮膚中のコレステロール含量は肝臓の約 2 分の 1 しか含まれていなかったのに対し、7-DHC の含量は約 250 μg/g と、肝臓 (約 1.1 μg/g) の 230 倍も多く含まれていた。このように皮膚中の 7-DHC 含量が肝臓に比べて遥かに多いのは、日照によってビタミン D₃ を

生成させるための生理的必然性によるものであろう。特に皮膚中の 7-DHC が表皮の部分に多く存在し、真皮や脂肪組織の部分にはあまり存在していないこと⁶⁾から考えてもそのことが強く示唆される。

表皮の部分に存在する 7-DHC は、日光中の有効紫外線 (290—330 nm) によって照射されるとき、試験管内での光化学反応と同様に、9,10位が開環してプレビタミン D₃ となり、体温で徐々にビタミン D₃ に熱異性化されたのち、ビタミン D 結合タンパク質 (DBP) と結合して体内に吸収されて血中に入る (Fig. 2)^{6,7)} 7-DHC の光化学反応で副成することが知られているタチステロール^{6e)} や、ルミステロール^{7e)} がラットやヒトの皮膚からも発見され、皮膚中でのビタミン D₃ の生成は、試験管内溶液反応と全く同一の光化学反応によるものであることが確かめられた。

体内に吸収されたビタミン D₃ は、後述するように、肝臓で25位が水酸化されて 25-Hydroxyvitamin D₃ (25-OH-D₃) となり、続いて腎臓で 1 α 位が水酸化されて活性型の 1 α , 25-Dihydroxyvitamin D₃ [1 α , 25-(OH)₂D₃] となって生理作用を発現する。

前述のように、動物の皮膚には 250 μ g/g 前後の 7-DHC が存在しているが、紫外線 (UV) 照射によって皮膚中に生成するビタミン D₃ の量はその1000分の1程度で、UV 照射を続けても、ビタミン D₃ の生成量はそれ以上に上昇しないことがラット^{6d)} 及びヒト^{7e)} で確かめられている。これはビタミン D の過剰症を防ぐための一種の生体防御反応であろう。

通常の生活をしている人では、どの程度のビタミン D₃ が皮膚で生成しているのかということは推定に頼らなければならないが、Davie ら⁸⁾ が提案した推定式と著者らの実測値を基に推測した日本人のビタミン D₃ 生成量は、晴天の日で夏に 720 IU/日、冬に 400 IU/日であり、曇天の日で夏に 260 IU/日、冬に 150 IU/日であった。⁶⁾ 一方、758人の健康成人の血漿中の 25-OH-D₃ 濃度を測定した結果によると、平均値 $\pm$ 標準偏差は23.0 $\pm$ 10.1 ng/ml であり、^{9a)} その大半が正常範囲 (10—40 ng/ml) 内であったことから、日本人の場合、通常の生活で十分のビタミン D₃ が皮膚で生成しているものと考えられた。しかし、日中外出する機会の少ない人 (特に老人、小児、乳幼児)、天候の悪い地域に住む人、成長期の子ども達では、総合ビタミン剤や調製粉乳などを通じてのビタミン D の補給が必要であろう。

3. 食品中のビタミン D 最近著者らは、二段階高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いる食品中のビタミン D 定量法を確立し、これを各種食品に応用し

た。^{9b)} その結果、可食部 100 g 当りでビタミン D 含量が多かったのは、シイタケ (干し) (1662 IU)、ウナギ (生) (1070 IU)、カツオ (生) (749 IU)、マイワシ (生) (544 IU)、卵黄 (155 IU) などであったが、その他の食品中にはビタミン D はほとんど含まれていなかった。したがって、食品からのビタミン D の摂取を望む場合には、前記の食品を積極的に摂取しなければならないが、そうではない場合には、総合ビタミン剤のような医薬品や、調製粉乳のような強化食品より補給するのが賢明であろう。

II. ビタミン D の代謝活性化

1. ビタミン D の活性代謝物 ビタミン D₂ 及び D₃ は、生体内で同様に代謝され、同様の代謝物を生成して生理作用を発現する。すなわち、肝臓で25位が水酸化されて 25-OH-D となり、腎臓で 1 α 又は24位が水酸化されて 1 α , 25-(OH)₂D 又は 24,25-(OH)₂D に代謝される。Fig. 3 はビタミン D₃ の代謝活性化を図示したものである。ビタミン D₂ の場合、側鎖構造が異なるだけで同様の代謝物を与えて生理作用を発現する。

これらの活性代謝物が単離され、構造式が決定されたのは、1960年代の後半から1970年代の初めにかけてである。ウィスコンシン大の Blunt ら^{10a)} は、ビタミン D 欠乏ラットにビタミン D₃ を静脈投与するとき、反転腸管法による腸管 Ca 吸収実験において、投与と生理作用発現までの間に10—12時間のずれがあることを観察し、ビタミン D₃ が体内で何らかの活性型に変わるのであると推察した。次いで同じグループの Lund ら^{10b)} はビタミン D 欠乏ラットに 10 IU の ³H-ビタミン D₃ を静脈投与し、24時間後に屠殺して各臓器を取り出し、その脂質抽出物中より、ビタミン D₃ よりもより極性の高い活性物質が生成することを認めた。この物質は、Blunt ら^{10c)} により単離され、スペクトルデータ等より 25-OH-D₃ と確認された。

一方、ケンブリッジ大の Lawson ら^{11a)} は、4-¹⁴C-ビタミン D₃ と 1 α -³H-ビタミン D₃ とを同時に投与したビタミン D 欠乏ニワトリ臓器の脂質抽出物中に、25-OH-D₃ よりももっと極性の高い代謝物がかなり多量に生成していることを認め、これをピーク P と命名した。ピーク P 中の ³H/¹⁴C の比が著しく減少していたことから彼らは、³H が存在していた C-1 位に何らかの変化が起こったのではないかと推察した。また、彼ら^{11b)} は、25-OH-D₃ をニワトリ腎臓ホモジネートとインキュベートするときもピーク P 物質が生成することを発見し、この物質の生成部位が腎臓であること、そしてその化学構造式が 1 α , 25-(OH)₂D₃ であることを明らかにした。

Fig. 3. Metabolism of Vitamin D₃

一方、ウィスコンシン大の DeLuca のグループ^{12a)}も、ほとんど同時に、1450羽のニワトリに [1,2-³H]-ビタミン D₃ を与え、24時間後に屠殺して標的組織である小腸を集め、脂質抽出物を精製してケンブリッジグループのピーク P に相当する物質を得、その化合物が 1α,25-(OH)₂D₃ であることを明らかにした。また、同じグループの Suda ら^{12b,c)} は、大量のビタミン D₃ を投与したブタ血漿の脂質画分より2つの代謝物を単離精製し、1つは 21,25-(OH)₂D₃、もう1つは 25,26-(OH)₂D₃ であると報告したが、後になって前者の構造は誤りであり、24,25-(OH)₂D₃ であると訂正された。^{12a)} 1α,25-(OH)₂D₃ がビタミン D₃ の活性型であることは、今や万人の認めるところであるが、24,25-(OH)₂D₃ や 25,26-(OH)₂D₃ の生体内での役割等については種々検討はされているが、未だに明らかにされていない。その後もビタミン D₃ の代謝物に関する研究は続けられ、*in vivo*, *in vitro* で生成する数多くの代謝物が単離され、構造が明らかにされているが、それらの詳細については山田ら^{13a)} 及び池川^{13b)} の総説を参照されたい。

なお、ビタミン D₂ の代謝については、ビタミン D₃ ほど詳しく検討されていないが、主な代謝物については、ビタミン D₃ と同様のものが単離され、構造が確かめられている。

2. ビタミン D の代謝調節 肝臓における25位の水酸化反応は、肝臓ミクロソームにあるチトクローム P 450 によって行われ、NADPH を補酵素とし、分子状の酸素を利用する。¹⁴⁾ 福島ら¹⁵⁾ は、D 欠乏ラット肝還流

実験でこの25位酸化系を検討し、ビタミン D₃ の25位の水酸化酵素には、high affinity-low capacity と low affinity-high capacity の2つの異なったタイプがあり、前者はビタミン D₃ の投与が生理量(ラットで 20 IU まで)のときに関係し、それを超えるときは後者が関係することを明らかにした。したがって、ビタミン D₃ の投与が少量のときは 25-OH-D₃ の生成も少なく、フィードバックがかかっているように見えるが、ビタミン D₃ の投与が大量に及ぶときは 25-OH-D₃ の生成量は多く、無制限のような形で生成してくる。実際にヒトにビタミン D (ビタミン D₂ でもビタミン D₃ でも) を大量経口投与するとき、血漿中 25-OH-D の高濃度が見られるのはこのような機構によるためであろう。

肝臓で生成した 25-OH-D (25-OH-D₂ 又は 25-OH-D₃) は DBP と結合して血液中(ビタミン D 及び代謝物はほとんど血漿中に存在し、血球中には存在していない)を循環して腎臓へ運ばれ、ここで 1α 位又は24位が水酸化されて 1α,25-(OH)₂D [1α,25-(OH)₂D₂ 又は 1α,25-(OH)₂D₃] 又は 24,25-(OH)₂D [24,25-(OH)₂D₂ 又は 24,25-(OH)₂D₃] に代謝される。腎における水酸化反応はいずれもミトコンドリアに存在する mixed function monooxygenase によって行われ、^{16a)} それらの酵素の基質特異性は非常に高い。^{16b)} 腎臓における 25-OH-D の代謝調節機構は Fig. 4 のように示される。

動物において、血清 Ca 濃度を一定(ヒトの場合 10 mg/100 ml) に保つことが生理上非常に重要なことであり、血清 Ca 濃度が何らかの原因で低下すると、直ちに

Fig. 4. Metabolic Regulation of Vitamin D₃ and Calcium

それを上昇させるような作業が開始される。すなわち、血清 Ca 濃度が低下すると、Fig. 4 に示すように、直ちに副甲状腺に刺激が伝達されて副甲状腺ホルモン (parathyroid hormone, PTH) が分泌される。¹⁷⁾ PTH はすぐに骨へ行って、骨より血中へ Ca を溶出させて血清 Ca 濃度を上昇させるのであるが、PTH 単独で作用するのはあくまでも緊急の場合のみのものであり、正常な生理作用は PTH とビタミン D との共同作業のようである。事実、ビタミン D の欠乏は副甲状腺の肥大をもたらすが、これは緊急状態をずっと持続したために起こる異常な生理作用がもたらしたものであろう。ビタミン D 欠乏症のヒトにビタミン D を与えたり、UV 照射を行うとき、急速な血漿中 $1\alpha,25-(\text{OH})_2\text{D}$ の上昇が見られ、正常レベル以上となるが、¹⁸⁾ これはビタミン D 欠乏がもたらした副甲状腺機能亢進 (hyperparathyroidism) により、 1α -水酸化酵素が異常亢進状態となっているためである。

正常な場合には、血清 Ca 低下によって分泌された PTH は、腎臓ミトコンドリアにあるビタミン D の 1α 水酸化酵素を活性化し、 25-OH-D は $1\alpha,25-(\text{OH})_2\text{D}$ へと代謝される。¹⁷⁾ 生成した $1\alpha,25-(\text{OH})_2\text{D}$ は DBP と結合して血漿中を循環して標的器官である小腸及び骨へと運ばれる。小腸では Ca の吸収を促進し、骨では PTH と共同して骨より血中へ Ca を溶出させる。腸管及び骨からの Ca 供給によって血漿中 Ca 濃度は上昇し、正常レベル (10 mg/100 ml) に到達すると 1α 水酸化酵素の活性は止まり、代わって腎臓ミトコンドリアの 24 水酸化

酵素が活性化されて 25-OH-D は $24,25-(\text{OH})_2\text{D}$ へと代謝される。¹⁷⁾ 以上の他に、ビタミン D の代謝はカルシトニンや血中のリン濃度などによっても調節されている。ビタミン D の代謝物の生成と代謝調節の詳細は、須田の総説^{19a),b)} を参照されたい。

3. 血漿中のビタミン D 及び代謝物の濃度 前記のように、生体内に入ったビタミン D は、肝臓において 25-OH-D に代謝され、次いで腎臓で $1\alpha,25-(\text{OH})_2\text{D}$ 又は $24,25-(\text{OH})_2\text{D}$ に代謝される。これらの血漿中の濃度は、HPLC 法 (ビタミン D 及び 25-OH-D)、競合的タンパク質結合法 [ビタミン D, 25-OH-D , $24,25-(\text{OH})_2\text{D}$]、ラジオリセプター法 [$1\alpha,25-(\text{OH})_2\text{D}$] によって定量される。^{20,21)} 健康人におけるこれらの血漿中の濃度は Table I に示す通りである。^{21b),c)}

血漿中のビタミン D 自身の濃度は 0—30 ng/ml と大きく変動するため、初めは定量法の誤差によるのではないかと考えられていたが、後にこれはビタミン D の急速

TABLE I. Normal Ranges and Half Lives of Vitamin D and Its Metabolites in Healthy Human Plasma

Compound	Normal range	Half life
Vitamin D	1—5 ng/ml	1 d
25-OH-D	10—40 ng/ml	4—5 weeks
$24,25-(\text{OH})_2\text{D}$	1—4 ng/ml	2—3 weeks
$1\alpha,25-(\text{OH})_2\text{D}$	35—65 pg/ml	2—3 h

Note: This table is produced from Haddad's^{21b)} and Kobayashi's^{9a)} data.

な代謝回転によるものであることが明らかとなった。¹⁸⁾ すなわち、生体内に入ったビタミンDは急速に 25-OH-D に代謝されるため、ビタミンDを摂取後、血液試料を採取する時期によって血漿中の濃度は大きく変動するわけである。通常は 1—5 ng/ml とあまり高くない。^{21a)} これに対して血漿中の 25-OH-D はビタミンDの摂取に伴って急速に上昇し、以後比較的安定した値を示す。その正常値は 10—40 ng/ml であるが、夏高く冬低いという季節変動を示す。^{9a)} これは言うまでもなく、日光中の有効紫外線の照射によって皮膚で生成したビタミン D₃ の量を反映しているためである。したがって、血漿中の 25-OH-D 濃度の測定は、ビタミンDの栄養診断に適していると思われる。^{9a)} 一方、血漿中の $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}$ の濃度は、ビタミンDの摂取量や皮膚での生成量に関係なく、35—65 pg/ml (正常値は、研究者によって種々異なっていて発表されているが、著者らは、著者ら自身の定量結果と文献値を基に、35—65 pg/ml としている) と比較的一定に保たれている。これは前に述べたように、25-OH-D の腎臓での 1α 水酸化反応が厳密に代謝調節されているためである。この代謝調節に異常があるときには血漿中の $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}$ 濃度は異常値を示すので、この定量値は、後述するような種々の代謝異常による骨疾患の臨床診断によく利用されている。^{21a)} $24,25\text{-(OH)}_2\text{D}$ の血漿中濃度の正常値は、1—4 ng/ml と、25-OH-D に比べるとかなり低い。^{21b)} 一応は季節変動をしているが、25-OH-D ほども変動幅は大きくない。^{21c)} また、その臨床診断への応用性は $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}$ ほども高くない。

III. ビタミンDの生理作用

1. 生体内での Ca バランス ビタミンDの生理作用は、Ca とリンの代謝に関係している。50—60 kg の成人には 1—1.2 kg の Ca が含まれているが、そのうちの99%強が骨及び歯に、そして残りの1%弱が筋肉、血液、脳脊髄液などに含まれている。骨中の Ca は、主としてヒドロキシアパタイト $[\text{Ca}_5(\text{OH})(\text{PO}_4)_3]_2$ の形で存在している。^{22a)} したがって、Ca の代謝はリンの代謝と無関係でなく、リンと共同して骨を形成しており、ビタミンDはこの両者の代謝に関係している。ヒドロキシアパタイトは骨塩とも呼ばれ、骨が脆弱化してくる原因の多くは単位容積当りの骨塩量の減少、すなわち、骨中の骨塩密度が減少してくるためである。以下 Ca の代謝を中心に、ビタミンDの生理作用についてもう少し考察を加えてみたい。

Fig. 5 は生体内での Ca 代謝の概要を図示したものである。われわれの体を支えている骨格はがっちりして一見不動のように見える。しかし、実際は絶えず新陳代謝が起こっており、Ca は動いている。すなわち Fig. 5 に示すように、成人では 500 mg/日の Ca が骨より血液へと溶出し、一方では約 500 mg/日の Ca が血液より骨へと沈着し、収支のバランスが保たれている。また、経口摂取される Ca 量と、尿及び糞便より排泄される Ca 量はほぼ同一であり、差引が0となって恒常性 (homeostasis) が保たれている。^{19a,22a)}

以上のことをもう少し詳しく説明してみたい。成人の食事よりの Ca 摂取量が1日当り 1000 mg とすると、

Fig. 5. Metabolism and Homeostasis of Calcium (Modified from Ogata^{19c)})

このうちの約 300 mg が十二指腸より能動輸送によって吸収される。この中の約 200 mg は速やかに胆汁とともに小腸内に排泄されるが、この中の約 50 mg は小腸下部より受動的拡散によって再吸収される。結局体内に吸収された Ca 量は 150 mg となり、そうしてこの量だけの Ca 量が尿中に排泄されている。一方、糞便中へ排泄される Ca 量は約 850 mg ($1000 - 150 = 850$) であり、尿中への排泄された約 150 mg と合計すると食事より摂取された 1000 mg と一致し、差引は 0 となる。

これらの収支とは別に、骨より血漿中へ約 500 mg の Ca が溶出し、血漿中より骨へ約 500 mg の Ca が沈着し、これまた収支のバランスが保たれている。この恒常性を調節する因子に異常が生じると、Ca バランスがくずれて骨の病気が生じてくるわけである。ビタミン D が欠乏するとき、ビタミン D の肝及び腎、特に腎での活性化に異常が生じるとき、副甲状腺機能の異常、腎における Ca の再吸収能の異常など Ca の恒常性を調節する因子の異常が骨の病気につながって行くのはこのためである。

成長期の子供では骨の成長が日単位で著しく、当然のことながら Ca バランスはプラスでなければならない。4—5 歳の子供でも 1 日に 70—80 mg、15—16 歳の子供では実に 1 日 350—400 mg もの Ca 量がプラスでなければならない。したがって、このような成長期の子供達が十分な量の Ca を摂取しなかったり、Ca の吸収阻害や、ビタミン D の代謝異常があったりすると、骨が脆弱

化してくる。最近の子供達が一寸したことで骨折するのは、主として日常の Ca 摂取不足によるためであろう。妊産婦や授乳婦においても、多量の Ca が胎児や母乳にとられるため、Ca を十分に摂取しなければならないのは当然のことである。

2. 腸管よりの Ca の吸収 腎臓で形成された $1\alpha, 25-(\text{OH})_2\text{D}$ は、血流に乗って標的器官の 1 つである小腸細胞に運ばれて Ca の吸収を促進する。 $1\alpha, 25-(\text{OH})_2\text{D}$ は、この細胞の細胞質に存在するリセプターと結合して細胞内へ取り込まれた後核へ運ばれ、Ca 結合タンパク質 (calcium binding protein, CaBP) などのタンパク質の合成を誘導する (Fig. 6).^{19d)}

ビタミン D 研究の初期、DeLuca ら^{23a)} 及び Norman^{23b)} は、ビタミン D 欠乏ラットにあらかじめアクチノマイシン D を投与しておく、ビタミン D_3 を投与しても腸管 Ca 吸収が完全に阻害されることを発見した。一方、Stohs ら^{23c)} は、 ^3H -オロチン酸の小腸粘膜の核 RNA への取り込みがビタミン D_3 の投与によって 2—3 倍に増大すること、及びこの増大はアクチノマイシン D の投与によって完全に阻害されることを発見した。これらの事実より、ビタミン D は小腸細胞内で、Ca の吸収に関係するある種のタンパク質の合成系、特に DNA → mRNA の生合成系に関与しているのではないかと考えられた。

以上のような背景の下に、Taylor, Wasserman^{24a)} による CaBP の発見がもたらされたのである。彼らは、ビ

Fig. 6. Possible Mechanism of Intestinal Calcium Absorption (Fujita and Suda^{19d)})

タミンD欠乏及びビタミンD₃投与ニワトリの小腸ホモジネートを分画して得た上清画分についてゲル濾過を行い、少なくとも4つのタンパク質画分を得たが、ビタミンD₃投与群より得た1つの画分がCaと結合すること、そしてビタミンD欠乏群ではこの能力が欠如していることを見だし、CaBPの存在を明らかにした。これに引き続いての彼ら^{24b)}の研究により、このCaBPは単離精製され、分子量が約28000であること、Caと1:1の割合で結合することなどの性質が明らかにされた。

最初このCaBPは小腸細胞の粘膜側微絨毛の最表面及びゴブレット細胞に存在し、食事性Caと直接結合して細胞内に引き込む役目をしているものと考えられていた。^{24c)}この理論は合目的で魅力のあるものであったが、その後、Morrisseyら²⁵⁾によって否定され、CaBPは粘膜表面やゴブレット細胞ではなく、Fig. 6に示すように、細胞質中に存在していると訂正された。したがって、CaBPは腸管Ca吸収に直接関与しているのではなく、間接的な形で関与している訳である。おそらく、小腸粘膜最表面にはCaBPよりももう少し分子量の小さなタンパク質が存在していて、これによって細胞内に引き入れられたCaはCaBPに渡されるのだろうと推察されている。CaBPはこのCaを結合させた状態で小腸細胞内を粘膜側から漿膜側へと運搬し、血液内へ送り込む役目をしているのであろうと考えられている(Fig. 6)。しかし、この粘膜側表面にあると思われる小タンパク質の存在については実証されていない。以上のことを基にして腸管Ca吸収の概要をまとめてみると次のようになる。経口的に摂取されたCaは、胃の酸性でほとんど解離型のCaイオンとなり、小腸上部のpH(6-7)でもかなりCaイオンのままで残る。この部位でかなりの量(Fig. 5では300mg)のCaがイオンの形で吸収されるが、ここでの吸収は単純な受動的な拡散によるのではなく、特殊な機構に基づく能動輸送によって吸収されることが考えられている。すなわち、Caイオンは小腸上部(十二指腸)細胞の微絨毛表面に存在すると思われる分子量

の小さなタンパク質(このタンパク質は未確認)と結合して細胞内に引き入れられたのち、細胞質内でCaBPに引き渡される。CaBPはこのCaイオンを粘膜側より漿膜側へと輸送し、血流中へと送り込む役目をしているものと考えられている。しかし、このあたりの詳細についてはほとんど不明で、今後の研究を待たなければならない。Fig. 5に示すように、一旦小腸上部より吸収されたCaは胆汁と共にかなりの部分(Fig. 5では約200mg)が腸管内に排泄されるが、この中一部分(Fig. 5では約50mg)が空腸、回腸より再吸収されるが、この吸収は受動的拡散によっているようである。

3. 骨のリモデリング Fig. 5で示したように、1日に約500mgのCaが骨より血漿中へ溶出すると同時に同量のCaが血漿中より骨へ沈着して動的平衡を保っている。骨より血漿中へCaが溶出することを骨吸収又は骨塩溶出(bone resorption)といい、血漿より骨へCaが沈着することを骨形成(bone formation)という。骨吸収と骨形成とがほとんど同時に起こって動的平衡を保っている現象を骨のリモデリング(bone remodeling)という。骨吸収は破骨細胞(osteoclast)と呼ばれる細胞によって誘導され、骨形成は骨芽細胞(osteoblast)と呼ばれる細胞によって誘導される。

骨のリモデリングの過程については、Fig. 7のように説明されている。すなわち、新しい骨が形成される時には必ず古い骨が溶出され、溶出された部分を補填するような形で新しい骨が形成されてくる。まず静止状態にある骨表面に破骨細胞が取り付いて活性化し、骨塩を血漿中へ溶かし始めて骨吸収が起こる。その結果として骨表面にくぼみが生じるが、それと同時に骨芽細胞の形成が始まり、骨芽細胞は血漿中より新しい骨塩を動員して骨形成を行い、先刻失われた部分を補填した形で元の静止状態へと復帰させる。このようなリモデリングが繰り返されて動的平衡が保たれているわけであるが、このバランスがくずれて骨吸収の方が多くなると骨の脆弱化が起こり、骨粗鬆症のような骨疾患が起こってくるのであ

Fig. 7. Bone Remodeling (Modified from Bauwens *et al.*^{26b)})

Fig. 8. Possible Mechanism of Bone Resorption and Bone Formation
(Modified from Nishii^{28a)})

る。骨のリモデリングについては、井上,^{28a)} Bauwens
ら,^{28b)} 高橋^{28c)} の総説を参照されたい。

Fig. 8 は、前記の破骨細胞と骨芽細胞の形成と、その
過程で果たす $1\alpha,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ の役割を图示したもので
ある。骨髓で形成された骨髓幹細胞は、 $1\alpha,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$
の作用によってマクロファージへと分化誘導されるが、
これはT細胞を経て形成される融合促進因子 (macro-
phage fusing factor, MFF) 及び $1\alpha,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ の作
用により融合して多核巨細胞である破骨細胞を形成し、
骨吸収が始まる。この辺りの機構は、須田ら²⁷⁾ の研究
によって明らかにされたものである。後述するように、
 $1\alpha\text{-OH-D}_3$ や $1\alpha,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ のような活性型 ビタミ
ン D_3 剤が骨髓性白血病の治療に有効なのは、未分化の
骨髓性白血病細胞を正常なマクロファージへと分化誘導
することができるからである。

マクロファージより破骨細胞が形成されるのとほとん
ど同時に、未分化間葉細胞より骨芽細胞が形成されてく
るので、骨芽細胞の促進因子としてマクロファージ及び
破骨細胞が直接あるいは間接的に作用していると考えら
れている。骨芽細胞には $1\alpha,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ のリセプター
が存在しており、 $1\alpha,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ は破骨細胞のみなら
ず、骨芽細胞の形成にも関係しているようであるが、詳
細については今後の検討を待たねばならない。 $1\alpha,25-$
 $(\text{OH})_2\text{D}_3$ の他に、アルカリホスファターゼ (ALP) 及び
骨 GLA タンパク質 (γ -カルボキシグルタミン酸を含む
特殊なタンパク質でオステオカルシンとも呼ばれてい
る) も骨芽細胞の形成に関係していることが知られてい

る。この辺りの詳細については須田ら,^{27d,e)} 西井,^{28b)} 栗
原ら^{28c)} の総説を参照されたい。

IV. ビタミンDの欠乏症と過剰症^{29a,30)}

ビタミンDの欠乏症は、乳幼児、小児の場合はクル病
(rickets), 成人の場合は骨軟化症 (osteomalacia) のよ
うな骨疾患となって現われる。クル病になると、関節部
軟骨細胞のみが異常に増殖し、くるぶし、ひざ、手首な
どの関節部が肥大してきて二重関節のようになる。クル
病の状態で無理に体重を支えようとする、O脚やX脚
となり、重症になると痛くて立つこともできなくなる。
特に生後1年までの幼児の日光浴不足やビタミンDの摂
取不足がクル病の原因となる。このような単純なビタミ
ンD不足によるクル病はビタミンDの補給で容易に治癒
するが、最近では単純なビタミンD不足によるクル病は
日本ではほとんど見られなくなり、骨疾患は後述するよ
うなビタミンDの代謝活性化機能の障害によるものが多
いようである。

これまでに述べてきたように、ビタミンDは生体内で
代謝活性化されたのち、生理作用を発現する。 25-OH-D
より $1\alpha,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ への腎臓での代謝は厳密に代謝調
節されており、ビタミンDの過剰を投与したときでも血
漿中の $1\alpha,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ 濃度は比較的一定のレベルに保
たれている。したがって、現在市販されている $1\alpha\text{-OH-}$
 D_3 や $1\alpha,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ 剤のように 1α 水酸基があら
かじめ合成によって導入されているような活性型ビタミ
ンD剤ならともかく、通常のビタミンD剤の場合はあまり
過剰症を心配する必要はないようである。しかしなが

ら、1日に10万IUを超えるような大量の連日投与のような場合には過剰症の恐れが出てくる。過剰症の症状は、食欲不振、体重減少、尿意頻繁、嘔吐、不機嫌などとして現れるが、ひどくなると、各組織、特に腎臓や動脈にCaが沈着して異常石灰化を起こし、死亡することもある。単なる過剰投与による場合はビタミンDの投与を中止すれば、過剰症の症状は速やかになくなる。過剰症は血漿中のCa濃度の高値（正常値は9—10mg/100ml）、1回尿における尿中Ca濃度（mg/100ml）/尿中クレアチニン濃度（mg/100ml）を測定し、この値が0.08—0.26ならば正常値、0.3を超えると異常ということで管理できる。³⁰⁾

1 α -OH-D₃や1 α ,25-(OH)₂D₃のような活性型ビタミンD₃剤は、腎臓で代謝調節されるべき1 α 水酸基が初めから入っているため、過剰症には特に注意が必要であり、前述の血漿中のCa濃度、尿中のCa/クレアチニン濃度の管理が必要である。

V. 代謝異常による骨疾患^{22b,29,30)}

これまで述べてきたように、ビタミンDは肝臓で25位が、引き続いて腎臓で1 α 位が水酸化されて活性型の1 α ,25-(OH)₂Dとなつて生理作用を発現する。この代謝活性化は、血漿中のCaやリン濃度、PTHなどのホルモンによって調節されている。したがって、これらが関係している臓器、例えば腎臓や副甲状腺機能障害がある場合、ビタミンDの活性化が十分に行われず、骨疾患が発生する。このような骨疾患においては、ビタミンD自身をいくら与えても治癒に導くことができず、従来は難病、奇病の類としてさしたる治療方針も見出せないまま手をこまねいていた状態であった。しかし、ビタミンDの代謝活性化が解明されるにつれて、これらの骨疾患の原因が明らかとなり、治療に光明がさしてきた。ここに登場してきたのが1 α -OH-Dや1 α ,25-(OH)₂Dのような活性型ビタミンDである。これらの化合物は腎臓で活性化されるべき1 α 水酸基が合成であらかじめ導入されているので、腎疾患のようにビタミンDの活性化不全が原因となっている骨疾患の治療に有効となる。日本では、まず1 α -OH-D₃が、続いて1 α ,25-(OH)₂D₃が新薬として認可され、整形外科、内科、小児科を初め、臨床の各科で幅広く用いられている。以下主な代謝不全性骨疾患について簡単に述べることにする。

1. 腎性骨疾患 慢性腎不全患者あるいは腎摘出患者においては、腎臓における1 α 水酸化機能を失っているか、又は低下しているために、骨病変が起こる。長期の透析患者においては100%近く骨病変が観察されるという。この種の骨疾患は、腎臓でビタミンDが活性化さ

れないために起こるものであり、あらかじめ化学合成で1 α 位に水酸基を導入した1 α -OH-D₃又は1 α ,25-(OH)₂D₃のような活性型ビタミンD₃剤の投与が有効である。1 α -OH-D₃は一種のプロドラッグであり、投与されるとき、肝臓で25位が水酸化されて1 α ,25-(OH)₂D₃となり、薬効を発揮することが知られている。³¹⁾しかし、これらの活性型ビタミンD剤は、前項で述べたような代謝調節が行われないうちに、血漿中のCa濃度や、尿中Ca/クレアチニン濃度比の測定を行って過剰症の発生を防がなくてはならない。したがって、これらの活性型ビタミンD₃剤は、医師の処方せんを必要とする要指示薬に指定されている。1 α -OH-D₂や1 α ,25-(OH)₂D₂の方が毒性が低くてよいという報告があるが、このような活性型ビタミンD₂剤はまだ市販されていない。

2. 副甲状腺機能低下症 Fig. 4に示したように、腎臓における1 α 水酸化酵素の活性は副甲状腺より分泌されるPTHによって誘導される。したがって、副甲状腺機能低下症(hypoparathyroidism)は1 α 水酸化酵素活性の低下より1 α ,25-(OH)₂Dの生合成低下を招き、骨病変を引き起こす。低Ca血症とそれに伴うテタニーや、高リン血症などを併発する場合が多い。活性型ビタミンD剤の投与で治療できる。

3. ビタミンD依存症 ビタミンD依存症(vitamin D dependency)というのは、通常染色体劣性遺伝のビタミンD抵抗性クル病であり、腎臓での1 α 水酸化酵素に障害のある一種の腎性クル病である。かつては、ビタミンDの大量投与によって治療していたところから、ビタミンD依存症と命名されている。現在は、活性型ビタミンD剤の投与で治療されている。

4. 原発性低リン血症性クル病 原発性低リン血症性クル病(primary phosphatemic rickets)の大半は遺伝性のもので、低リン血症と過リン尿を特徴とする。腎尿細管におけるリンの再吸収不全による低リン状態から1 α 水酸化酵素の低下を招き、その結果骨疾患が誘発される。活性型ビタミンD剤の投与で治療できる。

5. 未熟児性クル病³⁰⁾ 未熟児(premature)、特に出生時の体重が1500g以下の極小未熟児にクル病が発生しやすいことが知られている。これは腎臓における1 α 水酸化酵素の生成が十分でない状態で出生したためと考えられており、活性型ビタミンD剤による治療が行われることが多い。

6. 骨粗鬆症 骨粗鬆症(osteoporosis)は、老人、特に閉経期の女性に多く見られる骨疾患で、骨幹部の単位容積当たりの骨塩量が減少して骨の脆弱化が引き起こされる病気である。体内に吸収されるCa量よりも排泄

TABLE II. Frequency of Femur Fracture on American Black and White People^{19d)}

Age	Black		White	
	Women	Men	Women	Men
45—49	0	0	2	0
50—54	0	0	4	1
55—59	0	0	8	1
60—64	1	0	9	1
65—69	0	0	14	2
70—74	2	0	25	8
75—79	0	1	21	2
80—	2	1	63	13
total	5	2	146	28

Note: The data are presented as frequency per 100000 of population.

される Ca 量の方が多くなって Ca バランスがマイナスとなり、徐々に骨塩量が減って骨が脆くなる疾患である。女性ホルモンの欠如がビタミンDの代謝異常をきたして骨疾患を起こすので、閉経期の女性に多く発生するとされている。骨粗鬆症患者の血漿中 $1\alpha, 25\text{-(OH)}_2\text{D}$ 濃度が健常人に比べて有意に減少していることが確かめられ、腎臓の 1α 水酸化酵素活性の低下がその原因ではないかと考えられている。活性型ビタミンD剤の投与で治療できる症例が多いようである。Table II に示すように、アメリカでの統計調査によると、同じ環境下で生活しているにもかかわらず、大腿骨頸部骨折の頻度は、黒人に比べて白人、特に白人女性が多いようである。^{19d)} 黒人女性の骨粗鬆症の発生頻度が白人に比べて低いのは、閉経期に入って骨より Ca が徐々に失われて行っても、生まれつき骨が大きく Ca の貯蔵が多いので、骨粗鬆症になりにくいのではないかと考えられている。これらのデータより、若い時期より Ca やビタミンDを十分に摂

取して大きな骨を作ることが骨粗鬆症の予防に有効ではないかとの意見が強くなっている。また、運動することによって骨粗鬆症を予防できるとの報告もあり、高齢化社会を迎えて骨粗鬆症予防の問題は真剣に取り組まれ始めている。骨粗鬆症の詳細については、井上,^{26a)} Bauwens ら,^{26b)} Lukert^{26c)} の総説を参照されたい。

おわりに

以上、ビタミンDと Ca 代謝についての概要について述べてきたわけであるが、冒頭に述べたように、 $1\alpha\text{-OH-D}_3$ や $1\alpha, 25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ のような活性型ビタミンD剤は、単に骨疾患の治療薬としてだけではなく、多方面にわたる疾病の予防や治療に有効であることが判明し、活性型ビタミンDのブームが起こっている。

骨髄性白血病細胞を正常なマクロファージへ分化誘導するということを見出したのは、昭和40(歯)生化学の須田らのグループ²⁷⁾ であったが、この発見は埼玉ガンセンターの穂積ら³²⁾ との共同研究による臨床応用へと発展している。また、東大医科研の黒木ら³³⁾ との共同研究による皮膚癌の治療研究へと発展し、活性型ビタミンDがアンチプロモーター作用を有していること^{33b)} などが明かとされている。これらの療法は、differentiation therapy と言われるもので、癌の新しい治療法として注目を浴びている。この辺りの詳細については、黒木らの総説^{33e)} を参照されたい。

活性型ビタミンDはこの他に、免疫担当細胞の活性化^{34a)} や、腺ホルモン分泌に対する作用^{34b)} や、皮膚病の一種である乾癬症に対する効果^{34c)} など、臨床の多方面における効果が期待されている。今後の研究によってそれらの詳細が解明され、難病、奇病と言われてきた多くの疾病の治療に効果性を発揮する日も近いものと思う。

引用文献

- 1) 小林 正, 衛生化学, **31**, 156 (1985).
- 2) 小林 正, “ビタミン学 [I], 脂溶性ビタミン,” 日本ビタミン学会編, 東京化学同人, 東京, pp.103—119.
- 3) 小林 正, “ビタミン学実験法 [I], 脂溶性ビタミン,” 日本ビタミン学会編, 東京化学同人, 東京, pp.82—106.
- 4) K. Takada, R. Ito, K. Tokunaga, T. Kobayashi, T. Takao, *J. Chromatogr.*, **216**, 385 (1981).
- 5) J.A. MacLaughlin, M.F. Holick, *J. Clin. Invest.*, **76**, 1536 (1985).
- 6) a) T. Okano, M. Yasumura, K. Mizuno, T. Kobayashi, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **23**, 165 (1977); b) T. Okano, K. Mizuno, T. Kobayashi, *ibid.*, **24**, 511 (1978); c) T. Okano, K. Mizuno, N. Matsuyama, N. Nobuhara, T. Kobayashi, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas*, **98**, 253 (1979); d) K. Takada, T. Okano, Y. Tamura, S. Matsui, T. Kobayashi, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **25**, 385 (1979); e) K. Takada, T. Kobayashi, *Biochim. Biophys. Acta*, **666**, 356 (1981); f) 小林 正, ビタミン, **59**, 435 (1985).

- 7) a) M. Holick, J.E. Frommer, S.C. McNeill, N.M. Richtand, J.W. Henley, J.T. Potts, Jr., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **76**, 107 (1977); b) M.F. Holick, N.M. Richtand, S.C. McNeill, S.A. Holick, J.E. Frommer, J.W. Henley, J.T. Potts, Jr., *Biochemistry*, **18**, 1003 (1979); c) M.F. Holick, J.A. MacLaughlin, M.B. Clark, S.A. Holick, J.T. Potts, Jr., R.R. Anderson, I.H. Blank, J.A. Parrish, P. Elias, *Science*, **210**, 203 (1980); d) M.F. Holick, *J. Invest. Dermatol.*, **77**, 51 (1981); e) M.F. Holick, J.A. MacLaughlin, S.H. Doppelt, *Science*, **211**, 590 (1981).
- 8) N.W.J. Davie, D.E.M. Lawson, C. Emberson, J.L.C. Barnes, G.E. Roberts, N.D. Barnes, *Clin. Sci.*, **63**, 461 (1982).
- 9) a) T.Kobayashi, T. Okano, S. Shida, K. Okada, T. Suginoara, H. Nakao, E. Kuroda, S. Kodama, T. Matsuo, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **29**, 271 (1983); b) A. Takeuchi, T. Okano, M. Ayame, H. Yoshikawa, S. Teraoka, Y. Murakami, T. Kobayashi, *ibid.*, **30**, 11 (1984); c) T. Kobayashi, T. Okano, A. Takeuchi, *J. Micronutrient Anal.*, **2**, 1 (1986).
- 10) a) J.W. Blunt, Y. Tanaka, H.F. DeLuca, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **61**, 1503 (1968); b) L. Lund, H.F. DeLuca, *J. Lipid Res.*, **7**, 739 (1968); c) J.W. Blunt, H.F. DeLuca, H.K. Schnoes, *Biochemistry*, **7**, 3317 (1968).
- 11) a) D.E.M. Lawson, P.W. Wilson, E. Kodicek, *Biochem. J.*, **115**, 269 (1969); b) D.E.M. Lawon, D.R. Fraser, E. Kodicek, H.R. Morris, D.H. Williams, *Nature (London)*, **230**, 228 (1971).
- 12) a) M.F. Holick, H.K. Schnoes, H.F. DeLuca, T. Suda, R.J. Cousins, *Biochemistry*, **10**, 2799 (1971); b) T. Suda, H.F. DeLuca, H.K. Schnoes, G. Ponchon, Y. Tanaka, M.F. Holick, *ibid.*, **9**, 2917 (1970); c) T. Suda, H.F. DeLuca, H.K. Schnoes, Y. Tanaka, M.F. Holick, *ibid.*, **9**, 4776 (1970); d) M.F. Holick, H.K. Schnoes, H.F. DeLuca, R.W. Gray, I.T. Boyle, T. Suda, *ibid.*, **11**, 4251 (1972).
- 13) a) 山田幸子, 高山浩明, 泉 芳子, 須田立雄, 日本臨床, **40**, 2637 (1982); b) 池川信夫, 生化学, **55**, 1297 (1983).
- 14) a) I. Bjorkhem, I. Holmberg, *J. Biol. Chem.*, **253**, 842 (1978); b) A. Hiwatani, Y. Ichikawa, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **97**, 1443 (1980).
- 15) M. Fukushima, Y. Nishii, M. Suzuki, T. Suda, *Biochem. J.*, **170**, 495 (1978).
- 16) a) D.R. Fraser, E. Kodicek, *Nature (London)*, **228**, 764 (1970); b) Y. Tanaka, L. Castillo, H.F. DeLuca, N. Ikekawa, *J. Biol. Chem.*, **252**, 1421 (1977).
- 17) M. Garabedian, M.F. Holick, H.F. DeLuca, I.T. Boyle, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **69**, 1673 (1972).
- 18) J.S. Adams, T.L. Clemens, J.A. Parrish, M.F. Holick, *N. Engl. J. Med.*, **306**, 722 (1982).
- 19) a) 須田立雄, “ビタミン学 [I], 脂溶性ビタミン,” 日本ビタミン学会編, 東京化学同人, 東京, 1980, pp.134—148; b) 須田立雄, “ビタミンD—その新しい流れ,” 講談社サイエンティフィック, 東京, 1982, pp.42—84; c) 尾形悦郎, *ibid.*, pp.1—28; d) 藤田拓男, 須田立雄, “[図説] 骨粗鬆症の成因・診断・治療,” 伊丹康人監修, 新宿書房, 東京, 1983.
- 20) a) 西井易穂, 南条正季, “ビタミン学実験法 [I], 脂溶性ビタミン,” 日本ビタミン学会編, 東京化学同人, 東京, pp.106—117; b) 清野佳紀, 山岡完次, 田中弘之, 里村憲一, 石田 充, 藪内百治, 市川雅常, ビタミン, **60**, 359 (1986).
- 21) a) R.L. Horst, “Assay of Calcium-regulating Hormones,” ed. by D.D. Bikle, Springer-Verlag, New York, 1983, pp.21—47; b) J.G. Haddad, *ibid.*, pp.49—63; c) 小林 正, ビタミン, **57**, 407 (1983); d) 山本逸雄, 滋野長平, 日野 恵, 青木 純, 北村 康, 曾根照喜, 土光茂治, 福永仁夫, 森田陸司, 鳥塚莞爾, ビタミン, **61**, 1 (1987).
- 22) a) 須田立雄, “骨の科学,” 医歯薬出版, 東京, 1985, pp.155—179; b) 高橋栄明, *ibid.*, pp.180—199.
- 23) a) J.E. Zull, E. Czarnowska-Misztal, H.F. DeLuca, *Science*, **149**, 182 (1965); b) A.W. Norman, *ibid.*, **149**, 184 (1965); c) S.J. Stohs, J.E. Zull, H.F. DeLuca, *Biochemistry*, **6**, 1304 (1967).
- 24) a) A.N. Taylor, R.H. Wasserman, *Arch. Biochem. Biophys.*, **119**, 536 (1967); b) R.H. Wasserman, R.A. Corradino, A.N. Taylor, *J. Biol. Chem.*, **243**, 3978 (1968); c) A.N. Taylor, R.H. Wassermann, *J. Histochem. Cytochem.*, **18**, 107 (1970).
- 25) R.L. Morrissey, R.W. Empson, D.T. Zolok, D.D. Bikle, T.J. Bucci, *Biochim. Biophys. Acta*, **583**, 34 (1978).
- 26) a) 井上哲郎, *Pharm. Medica*, **3**, 63 (1985); b) S.T. Bauwens, P.J. Drinka, L.E. Boh, *Clin. Pharm.*, **5**, 639 (1986); c) B.P. Lukert, *Arch. Phys. Med. Rehabil.*, **63**, 480 (1982).
- 27) a) E. Abe, C. Miyaura, H. Sakagami, M. Takeda, K. Konno, T. Yamazaki, S. Yoshiki, T. Suda, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **78**, 4990 (1981); b) C. Miyaura, E. Abe, T. Kuribayashi, H.

- Tanaka, K. Konno, Y. Nishii, T. Suda, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **102**, 937 (1981);
c) E. Abe, C. Miyaura, H. Tanaka, Y. Shiina, T. Kuribayashi, S. Suda, Y. Nishii, H.F. DeLuca,
T. Suda, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **80**, 5583 (1983); d) 須田立雄, ビタミン, **56**, 563 (1982);
e) 須田 聡, 榎本昭二, 須田立雄, 歯科ジャーナル, **20**, 575 (1984).
- 28) a) 西井易穂, 栄養学雑誌, **41**, 265 (1983); b) 西井易穂, ホルモンと臨床, **33**, 905 (1985); c) 栗原
徳善, 羽毛田慈之, 久米川正好, 代謝, **24**, 53 (1987).
- 29) a) 小椋陽介, “ビタミンD—その新しい流れ,” 講談社サイエンティフィク, 東京, 1982, pp.141—168;
b) 西井易穂, *ibid.*, pp.169—199.
- 30) 清野佳紀, 小児科診療, **46**, 803 (1983).
- 31) a) M. Fukushima, Y. Suzuki, Y. Tohira, I. Matsunaga, K. Ohi, H. Nagano, Y. Nishii, T. Suda,
Biochem. Biophys. Res. Commun., **66**, 632 (1975); b) M. Fukushima, Y. Suzuki, Y. Tohira, M.
Ishikawa, S. Sasaki, T. Suda, *FEBS Lett.*, **65**, 211 (1976).
- 32) a) Y. Honma, M. Hozumi, E. Abe, K. Konno, M. Fukushima, S. Hata, Y. Nishii, H.F. DeLuca,
T. Suda, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **80**, 5583 (1983); b) T. Kasukabe, Y. Honma, M. Hozumi,
T. Suda, Y. Nishii, *Cancer Res.*, **47**, 567 (1987).
- 33) a) T. Kuroki, K. Sasaki, K. Chida, E. Abe, T. Suda, *Gann*, **74**, 611 (1983); b) J. Hosomi, J.
Hosoi, E. Abe, T. Suda, T. Kuroki, *Endocrinol.*, **113**, 1950 (1983); c) K. Chida, H. Hashiba,
T. Suda, T. Kuroki, *Cancer Res.*, **44**, 1387 (1984); e) 新木敏正, 須田立雄, 黒木登志夫, 代謝, **24**,
3 (1987).
- 34) a) 藤田拓男, 代謝, **24**, 43 (1987); b) 清野 裕, *ibid.*, 61; c) 吉川邦彦, 森本茂人, *ibid.*, 眼で見る
ページ, p.274.